

**Resposta de *Stenomesus japonicus* i *Necremnus tutae*
als volàtils induïts a la planta de tomàquet amb *Tuta*
absoluta i amb *Macrolophus pygmaeus***



Laura Maria Pequeño Galea

Treball final de màster

Màster en Producció Integrada de Cultius

Directora: Rosa Gabarra

Tutor intern: Ramon Albajes

Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA) de Cabrils

Universitat de Lleida

Octubre 2018

Agraïments

Primer de tot, m'agradaria agrair a la Dra. Rosa Gabarra, per haver tornar a confiar en mi tutorant aquest treball; per transmetre el seu coneixement, resoldre els meus dubtes i donar-me suport durant aquest període. Agrair també l'ajuda de la Dra. Judit Arnó i la seva confiança en mi.

Al Dr. Ramon Albajes, per haver-me transmès els seus coneixements i per la seva confiança en mi.

Especialment agrair a la Paula Molina per haver-me encoratjat a fer el màster i per la seva ajuda durant tot moment a l'IRTA, així com també als tècnics de laboratori Victor, Pili i Silvia i la resta de companys, per donar-me un cop de mà sempre que l'he necessitat. A la Yahanna, per ajudar-me amb l'estadística i amb qualsevol dubte que pogués tenir.

Als meus companys de màster, per haver-me acompanyat en aquesta etapa i fer que l'any a Lleida sigui un bon record. A la Carlota, per estar sempre al meu costat, en els bons moments i en els no tan bons; des de primer de carrera fins ara. Gràcies amiga!

Per últim m'agradaria agrair als meus pares per tota l'ajuda que m'han donat i per recolzar-me sempre en les meves decisions, sense ells no hauria pogut arribar on soc ara. A la meua parella, per el suport i l'ajuda incondicionals.

A tots i cadascun d'ells, moltes gràcies.

Abstract

The tomato borer *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) is an invasive pest that produces significant damage to tomato crops in the Mediterranean area. This pest has a wide range of natural enemies, among them, the most important are predatory bugs and parasitoids. However the knowledge about larval parasitoids is limited. In all crops the interactions between plants, herbivores and natural enemies is important. These interactions are mediated by the volatiles emitted by the plant and the herbivores, these volatiles are cues for the parasitoids that allow them to perform oriented host searching. With the aim of understand better the biology of two of the most abundant parasitoids of *T. absoluta* in the Mediterranean area, *Stenomesus japonicus* and *Necremnus tutae*, we carried out laboratory experiments in order to know: (1) the capacity of the two parasitoids to detect the tomato plant and the infested tomato plant, (2) to determine the capacity of *N. tutae* to detect the tomato plant with *Macrolophus pygmaeus* traces, (3) to know the ability of *N. tutae* to discriminate between *M. pygmaeus* traces on infested tomato leaflets with *T. absoluta* and the ones without the predator presence. Additionally we studied the effect of the predator volatiles on *N. tutae* effectiveness on the pest. *Stenomesus japonicus* was not able to detect the tomato plant and only detected the plant attacked by *T. absoluta* with high pest infestation. *Necremnus tutae* detected both, the tomato plant and the plant attacked by *T. absoluta*, it also detected the plant with *M. pygmaeus* traces. The parasitoid *N. tutae* parasitized more the tomato leaflets when they were in contact with the predator.

Índex

1. Introducció	1
2. Objectius	4
3. Material i mètodes	5
3.1. Material vegetal i cria d'insectes	5
3.2. Olfactòmetre	5
3.3. Assajos de preferència de <i>Necremnus tutae</i>	7
3.4. Anàlisi de dades	8
4. Resultats	9
4.1. Olfactòmetre	9
4.2. Assajos de preferència de <i>Necremnus tutae</i>	12
4.2.1. No-preferència	12
4.2.2. Preferència	14
5. Discussió	15
6. Conclusions	18
7. Bibliografia	

1. Introducció

Un dels cultius més importants a la zona mediterrània és el tomàquet (*Lycopersicon esculentum* Miller). La plaga més important que afecta aquest cultiu és la *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), que pot arribar a causar pèrdues de fins al 100% en àrees quan no s'aplica cap mesura de control (Desneux *et al.*, 2010). Aquesta plaga és nativa de Sud Amèrica i va ser introduïda accidentalment a Espanya l'any 2006 (Urbaneja *et al.*, 2007) des d'on es va propagar ràpidament i en pocs anys a diferents parts d'Europa i Àfrica. Tot i que l'hoste principal sigui el tomàquet, aquesta plaga també es pot alimentar d'altres solanàcies fet que la fa més problemàtica (Desneux *et al.*, 2010). Els mètodes químics de control només són efectius parcialment ja que la seva larva és minadora de fulla, fet que dificulta l'eficàcia dels pocs insecticides autoritzats actualment. Aquest fet juntament amb la implementació de programes de gestió integrada de plagues als cultius de tomàquet en hivernacle, ha permès que el control biològic esdevingui clau per a controlar la plaga (Urbaneja *et al.*, 2012).

Actualment, els mírids són utilitzats de manera àmplia pel control de plagues en el cultiu de tomàquet, sent el depredador *Macrolophus pygmaeus* (Reuter) (Hemiptera: Miridae), una de les espècies més utilitzades degut a que és un depredador generalista que controla eficientment les dues espècies de mosca blanca (Albajes and Alomar 1999) i les minadores de fulla del tomàquet (espècies del gènere *Lyriomiza*) a més de depredar un alt nombre d'ous de lepidòpter (Urbaneja *et al.*, 2009; Arnó *et al.*, 2010). A més, aquest comportament de depredador generalista fa que es pugui instal·lar abans que *T. absoluta* al cultiu i romangui entre infestacions. El problema principal dels mírids i per tant, de *M. pygmaeus*, a l'hora de controlar *T. absoluta* és que només depreden els ous i no s'alimenten de l'estadi que provoca danys, que és la larva, és per això que són necessaris altres enemics naturals que facin aquesta funció per tal de dur un control biològic òptim de la plaga.

S'han trobat diverses espècies natives d'himenòpters parasitant espontàniament larves de *T. absoluta* a Europa com són *Necremnus* sp. nr. *artynes* (Walker) i *Stenomesus* sp. nr. *japonicus* (Ashmead) (Hymenoptera: Eulophidae) entre d'altres (Urbaneja *et al.*, 2012; Zappala *et al.*, 2012; Gabarra *et al.*, 2014). L'any 2015 es va dur a terme una revisió de les diferents espècies del gènere *Necremnus* que s'havien trobat parasitant larves de *T. absoluta* a Nord Amèrica i Europa (Gebiola *et al.*, 2015); trobant noves espècies, entre elles *Necremnus tutae* (Ribes & Bernardo), una espècie que es troba de manera abundant a la zona del Mediterrani en cultius de

tomàquet (Gabarra *et al.*, 2014). Aquestes espècies de parasitoides han sigut testades a laboratori per veure la seva efectivitat enfront la plaga i conèixer la biologia de les mateixes més detalladament (Calvo *et al.*, 2013; Chailleux *et al.*, 2014; Backer *et al.*, 2016; Bodino *et al.*, 2016, 2018).

Una manera de millorar el control biològic és conèixer a fons com han anat evolucionant les interaccions tròfiques relacionades amb l'emissió de volàtils per part dels herbívors i les plantes (com a defensa) i com aquests volàtils han sigut aprofitats pels enemics naturals com a senyal de la presència d'aliment i hostes.

En el cas dels volàtils associats als herbívors, es coneix per a diferents espècies de parasitoides, l'habilitat de reconèixer els volàtils associats al seu hoste (Rodríguez-Saona *et al.*, 2005; Kher *et al.*, 2017; Mbata *et al.*, 2017). Per exemple segons Kher *et al.* (2017) el parasitoide *Tetrastichus julis* (Waler) (Hymenoptera: Eulophidae) és capaç d'identificar els volàtils emesos no només per la larva del seu hoste, *Oulema melanopus* (Linnaeus) (Coleoptera: Chrysomelidae), sinó també els emesos per l'escut d'excrements de les mateixes.

També s'han dut a terme estudis que parlen sobre els volàtils emesos per les plantes en ser atacades per un herbívor (Hervibore Plant Induced Volatils, HPIVs) i com aquests poden ajudar als enemics naturals a detectar la plaga (Paré *et al.*, 1999; Dicke *et al.*, 2000, 2010; Clavijo *et al.*, 2012; Furlong *et al.*, 2018). Aquests volàtils són més potents que aquells emesos pels herbívors, ja que les plantes tenen més biomassa i per tant els volàtils que emeten poden arribar més lluny, alertant així als parasitoides que es guien de manera més efectiva que si només disposessin dels volàtils emesos per l'herbívor. En Moraes *et al.* (1998), es constata com el parasitoide *Cardiochiles nigriceps* (Viereck) (Hymenoptera: Braconidae) és capaç de distingir entre plantes no infestades i plantes infestades amb *Heliotis virescens* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae), el seu hoste, i *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae). A més, demostra que són els volàtils de la planta, i no els emesos per l'herbívor, els que guien al parasitoide; perquè aquest també respon a les plantes que han estat infestades amb *H. virescens* i a les quals se'ls hi ha retirat totes les fulles infestades.

S'ha demostrat per a diferents espècies de parasitoides, que aquests no només responen als volàtils emesos de manera natural per la planta, sinó que també responen als compostos sintètics d'aquests mateixos volàtils (Furlong *et al.*, 2018; Fors *et al.*, 2017; Fatouros *et al.*, 2005). Per exemple, Sasso *et al.*, (2009) troba que el parasitoide *Aphidius ervi* (Haliday) (Hymenoptera: Braconidae) es veu atret per

diferents compostos sintètics com el “salicilat de metil” i el “(8S,9R)-(E)-caryophyllene”, compostos presents en les plantes de tomàquets atacades per àfids.

Les interaccions intervingudes pels volàtils són aleshores tri-tròfiques i no només inclouen les relacions entre planta – herbívor – depredador/parasitoide, sinó que aquests volàtils també estableixen relacions entre depredadors i parasitoides associats a les mateixes plagues (Perez-Hedo *et al.*, 2015, 2018; Bouagga *et al.*, 2018a, 2018b). D'acord amb Perez-Hedo *et al.*, (2015, 2018), les plantes en les quals s'alimenta *M. pygmaeus* atreuen a *T. absoluta* però també a un parasitoide de mosca blanca, *Encarsia formosa* (Gahan) (Hymenoptera: Aphelinidae).

Per tant, els volàtils emesos per la planta podrien ser molt útils, ja que si s'aïlla la molècula responsable de l'atracció dels enemics naturals, aquesta es pot reproduir sintèticament i utilitzar-se com a atraient als cultius i així poder controlar la plaga fent servir control biològic (James 2004; James *et al.*, 2005).

2. Objectius

L'objectiu general d'aquest treball és proveir informació bàsica sobre la capacitat que poden tenir els parasitoides de *T. absoluta*, *S. japonicus* i *N. tutae* de localitzar la planta i la plaga, per poder millorar el seu control biològic en aquest cultiu. Aquest objectiu es concreta en els objectius específics següents:

- Conèixer la capacitat que tenen els dos parasitoides de detectar la planta de tomàquet i la planta infestada amb la plaga.
- Determinar la capacitat de *N. tutae* de detectar la planta de tomàquet quan ha estat ocupada pel depredador *M. pygmaeus*. Així mateix, conèixer l'habilitat d'aquest parasitoide a l'hora de discriminar entre folíols infestats amb *T. absoluta* que han estat en contacte amb el depredador i aquells que no ho han estat; i l'efecte dels volàtils associats al depredador sobre l'eficàcia del parasitoide sobre la plaga.

3. Material i mètodes

3.1. Material vegetal i cria d'insectes

Les plantes de tomàquet (*Lycopersicon esculentum*) varietat Roma utilitzades als assajos es van cultivar als hivernacles de l'IRTA de Cabrils a partir de llavors en safates de planter, posteriorment van ser trasplantades en testos. Les plantes utilitzades van ser inspeccionades per tal de verificar que estaven netes d'insectes i sanes. Per tal de mantenir al màxim la homogeneïtat als assajos, els folíols utilitzats van ser sempre d'una mida aproximada entre 5 i 7cm de llargària.

Les larves i els adults de *T. absoluta* així com també els adults de *M. pygmaeus* utilitzats als assajos provenien de les cries mantingudes a l'IRTA de Cabrils. Les larves de *T. absoluta* fetes servir eren de l'estadi L3 i els adults d'edat desconeguda. Pel que fa al depredador *M. pygmaeus*, els individus tenien entre 2 i 14 dies.

Els individus dels parasitoides *S. japonicus* i *N. tutae* utilitzats en els assajos també provenien de les cries establertes a l'IRTA de Cabrils, els adults originaris d'aquestes cries van ser recol·lectats al Maresme en plantes de tomàquet parasitant larves de *T. absoluta*. La cria es va dur a terme en una cambra climàtica a 25°C i un 70 ± 10% d'humitat relativa amb un fotoperíode de 16:8 (L:O). La cria es va dur a terme en gàbies de malla fina sobre plantes de tomàquet infestades amb larves de *T. absoluta* per tal de que les femelles fessin la posta, els adults s'introduïen durant una setmana a les gàbies, posteriorment s'extreien i 2 setmanes més tard s'obtenia la nova generació de parasitoides.

3.2. Olfactòmetre

Per tal d'avaluar la capacitat dels parasitoides *S. japonicus* i *N. tutae* de reconèixer diferents fonts d'olor concretes, es va utilitzar un olfactòmetre "Y". Cada braç d'aquest olfactòmetre tenia 17cm de llarg i 3'5cm de diàmetre, l'angle intern que hi havia entre els dos braços superiors era de 75°. Els dos braços estaven connectats a dos pots de vidre dels quals rebien aire amb les fonts d'olor seleccionades. L'aire que arribava als pots de vidre provenia d'un compressor (ABAC-FC2-24CM) i passava a través d'un filtre de carbó (ABAC-ACF60 1000L/min) i un humidificador d'aire. El corrent d'aire va ser mesurat a la base del braç principal de l'olfactòmetre amb un

anemòmetre de filferro calent (Testo) per tal d'ajustar-lo a 0.20 ± 0.03 m/s. En tots els casos l'olfactòmetre va ser utilitzat en posició vertical i es va utilitzar una llum suau semblant al crepuscle, aquestes variables van ser decidides després de dur a terme assajos preliminars. Els assajos es van dur a terme a 22°C i un $60 \pm 10\%$ d'humitat.

Els insectes es van col·locar suaument a la base del braç principal per tal d'afavorir la seva entrada. Es va considerar que l'individu prenia una decisió sempre i quan hagués superat els 5 cm d'un dels dos braços superiors abans de que transcorreguessin 10 minuts. Per tal d'evitar asimetries en els resultats de l'assaig degudes a factors ambientals o de posició, cada 4 individus testats l'olfactòmetre era netejat amb alcohol (96%) i es girava la posició dels dos braços respecte les dues fonts d'olor, a més cada 8 individus es va canviar la posició dels pots de vidre que contenien les fonts d'olor.

Per cadascuna de les comparacions dutes a terme amb l'olfactòmetre es van individualitzar 48 femelles de parasitoide d'entre 2 i 5 dies i es van deixar en dejú durant 24 hores abans d'iniciar l'assaig (cada individu només era testat un cop). Per a cada repetició, que consistia en una femella de *N. tutae* testada a l'olfactòmetre, es va anotar el comportament de la femella i el temps que trigava a prendre una decisió. El material vegetal que es va fer servir en tots els casos consistia en 20 folíols de tomàquet, els quals eren dipositats en petits vasos amb aigua i introduïts en els pots de vidre de l'olfactòmetre 24 hores abans d'iniciar els assajos.

En les comparacions on es va fer servir *T. absoluta*, es van dipositar 5 larves dintre de les seves respectives mines en 5 folíols dels 20 totals i en el cas dels adults sempre es van utilitzar 10 individus que s'introduïen en l'olfactòmetre junt amb els 20 folíols corresponents. Per a les femelles de *T. absoluta* congelades, aquestes es van dipositar dintre de l'olfactòmetre sobre els folíols de tomàquet. En tots els casos els diferents estadis de *T. absoluta* van ser introduïts juntament amb la planta 24 hores abans d'iniciar els assajos. En aquells casos en les quals es va fer servir *M. pygmaeus*, es van introduir 35 adults en gàbies amb una planta de tomàquet en l'estadi 14-15 de l'escala BBCH, en una cambra climàtica a 22°C i un $60 \pm 10\%$ d'humitat relativa amb un fotoperíode de 16:8 (L:O). Passats 5 dies, la planta de tomàquet va ser retirada de la gàbia i va ser netejada per tal de que no quedés cap adult de *M. pygmaeus*; posteriorment es van extreure 20 folíols i es van introduir a l'olfactòmetre.

Les comparacions dutes a terme en el cas de *S. japonicus* van ser (1) tomàquet no infestat vs. aire, (2) tomàquet amb larves de *T. absoluta* vs. aire i (3) tomàquet amb

tots els estadis de *T. absoluta* vs. aire; pel que fa a *N. tutae* les comparacions van ser (1) tomàquet no infestat vs. aire, (2) tomàquet amb larves de *T. absoluta* vs. aire, (3) tomàquet no infestat vs. tomàquet amb larves de *T. absoluta*, (4) tomàquet no infestat vs. tomàquet amb adults de *T. absoluta*, (5) tomàquet no infestat vs. tomàquet amb femelles congelades de *T. absoluta* sobre els folíols i (6) tomàquet no infestat vs. tomàquet en contacte amb *M. pygmaeus* durant 5 dies.

3.3. Assajos de preferència de *Necremnus tutae*

Femelles del parasitoide *N. tutae* de entre 4 i 6 dies d'edat van ser avaluades en assajos que anomenem de “no-preferència” i “preferència” per veure l'efecte que causa l'alimentació sobre la planta de tomàquet del depredador *M. pygmaeus* a l'hora de que *N. tutae* parasi *T. absoluta*. Les femelles es van deixar en dejú durant 24 hores i cada femella només va ser utilitzada un cop.

L'assaig no-preferència va consistir en oferir a les femelles de *N. tutae* dos tractaments per separat, dos folíols de tomàquet cadascun amb una larva de *T. absoluta* (folíol No M) o dos folíols de tomàquet que havien estat en contacte durant 5 dies amb *M. pygmaeus* i als que posteriorment se'ls hi havia afegit una larva de *T. absoluta* (folíol M). En els assajos de preferència, les femelles de *N. tutae* disposaven dels dos tractaments alhora, un folíol de tomàquet amb una larva de *T. absoluta* (folíol No M) i un folíol de tomàquet que havia estat en contacte amb *M. pygmaeus* durant 5 dies i posteriorment es va sembrar amb una larva de *T. absoluta* (folíol M). Les arenes consistien en plaques de petri de plàstic (15 cm de diàmetre) amb paper de filtre blanc a la base sobre del qual es col·locaven els diferents folíols, en els laterals de l'arena separats l'un de l'altre aproximadament uns 3 cm. Els folíols tenien una metxa de paper l'extrem del qual es va mullar, per tal d'assegurar que la fulla mantenia la humitat adient perquè la larva sobrevisqués durant tot l'assaig.

Les femelles del parasitoide van ser introduïdes al centre de les arenes de manera suau per tal de no condicionar la decisió de les mateixes. Posteriorment, les plaques es van guardar a una cambra a 25°C durant 6 hores, passades les quals, es van extreure els parasitoides. Per tal de que els ous del parasitoide es desenvolupessin millor, les plaques es van retornar a la cambra de 25°C durant 24 hores més. Passat aquest temps, es va dur a terme el recompte de larves vives, mortes i parasitades de cadascuna de les repeticions, així com també l'activitat del

parasitoide (larves parasitades + larves mortes) i el nombre d'ous i larves de primer estadi del parasitoide trobades a les larves de *T. absoluta* parasitades.

Es van dur a terme a terme 30 repeticions amb 10 controls (en els quals no s'introduïa el parasitoide) per a cada opció (No M i M) a l'assaig no-preferència i 36 repeticions amb 20 controls pel que fa a l'assaig preferència. Els controls es van dur a terme per veure si es produïa mortalitat en les larves de *Tuta absoluta* a causa de la manipulació de les mateixes.

3.4. Anàlisi de les dades

Per als assajos d'olfactòmetre, les diferències en la proporció de femelles de *S. japonicus* i *N. tuta* que van escollir una font d'olor particular es van analitzar duent a terme un test binomial bilateral (dues cues), els individus que no van respondre passats 10 minuts no van ser inclosos als anàlisis. El temps de resposta dels dos parasitoides en els diferents assajos d'olfactòmetre es va dur a terme amb una ANOVA d'un factor en el cas de que les dades fossin normals i amb un anàlisi no paramètric si les dades no eren normals i ho requerien; l'anàlisi no paramètric que es va dur a terme va ser una prova de rangs de Wilcoxon. Les dades obtingudes en els assajos de preferència amb *N. tuta*, dades referents a número de larves de *T. absoluta* mortes i parasitades, també van ser analitzades amb el mateix test; així com també el número d'ous de parasitoide trobats parasitant les larves de *T. absoluta* als assajos de preferència. La normalitat de les dades es va comprovar mitjançant el test de Shapiro-Wilk i l'anàlisi de variàncies es va dur a terme amb el test de Barlett, posteriorment es va fer la separació de mitjanes mitjançant el test HSD de Tuckey. En tots els casos el nivell de significació que es va tenir en compte va ser $P < 0.05$. Totes les dades van ser analitzades amb el programa SAS 9.3 per a Windows.

4. Resultats

4.1. Olfactòmetre

Stenomesus japonicus no va mostrar una preferència significativa ni per la planta de tomàquet no infestat (NI) ni pel tomàquet amb larves de *T. absoluta*. No obstant, quan les femelles van haver d'escollir entre la planta de tomàquet amb tots els estadis de *T. absoluta* o l'aire, aquestes sí van mostrar una preferència significativa cap a la planta atacada per la plaga (Fig. 1). Per als tres tests duts a terme, el número de no respostes va anar del 29 al 83%, sent el valor més elevat aquell trobat en la comparació d'aire contra tomàquet. A més per la única comparació amb resultats significatius, aquella on es va comparar aire contra tomàquet amb tots els estadis de *T. absoluta*, el número de no respostes va ser del 56%, més de la meitat de repeticions.

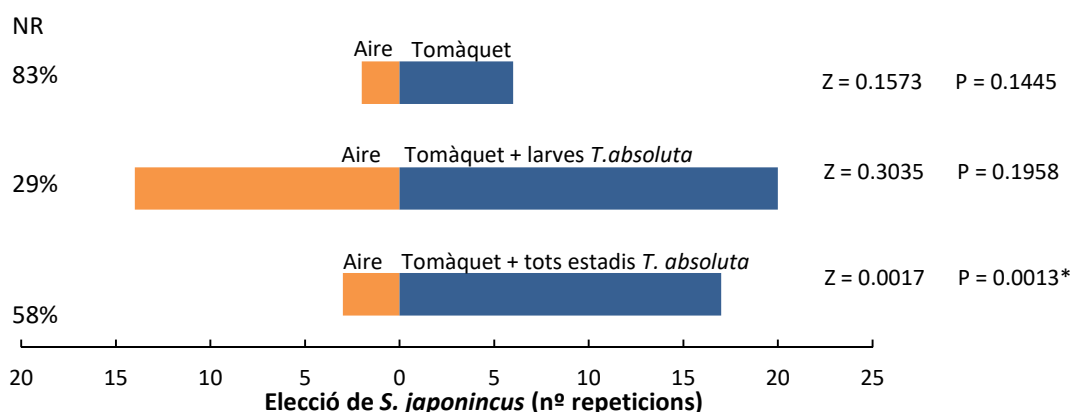


Figura 1. Número de femelles de *S. japonicus* atretes a diferents fonts d'olor en un olfactòmetre Y (nº total de femelles testades = 48). Els valors Z i P-valors pertanyen a un test binomial bilateral de resposta aleatòria. * Indica valors significativament diferents entre les fonts d'olor. Els individus que no van respondre (NR) no es van incloure a l'anàlisi. El temps mig de resposta de dalt a baix per als tractaments va ser de 182, 227 i 215s.

Pel que fa als temps de resposta, aquests no van ser significatius per a cap de les comparacions, ja que la variabilitat en el temps de resposta va ser molt elevada en tots els casos. En la comparació d'aire contra tomàquet no infestat (NI), la mitjana de temps de resposta pel tomàquet va ser de $182 \pm 115,8$ s enfront de $82,5 \pm 17,7$ s a l'aire per l'aire ($F = 1,33$, $P = 0,2926$, g.l. = 1). Quan es va comparar aire contra tomàquet amb larves de la plaga contra aire, la mitjana de temps de resposta va ser de 227 ± 151 s enfront de $282 \pm 141,2$ s ($Z = -0.44721$, $P = 1$) i, en comparar tomàquet amb tots els estadis de la plaga contra aire, la mitjana de temps de resposta va ser de 215 ± 97 s pel tomàquet amb plaga enfront de $94 \pm 45,2$ s per l'aire ($F = 4,34$, $P = 0,0518$, g.l. = 1).

Pel que fa al parasitoide *N. tutae*, aquest va mostrar una preferència significativa per la planta de tomàquet i per la planta de tomàquet amb larves de *T. absoluta* quan es van comparar amb aire (Fig. 2). Però, en els casos en els quals es va testar la planta de tomàquet no infestada (NI) contra la planta amb larves o adults de *T. absoluta*, les femelles de *N. tutae* van mostrar preferència significativa per les plantes que tenien *T. absoluta*, ja fos en forma de larva o d'adult. En canvi, quan la planta de tomàquet no infestat es va comparar amb una planta de tomàquet en la qual es van posar femelles de *T. absoluta* congelades sobre els folíols, els parasitoides no van mostrar preferència per a cap de les dues fonts olfactivas. Quan a les femelles de *N. tutae* se'ls hi va oferir la opció d'escollir entre una planta de tomàquet no infestada o una planta de tomàquet que havia estat en contacte amb el depredador *M. pygmaeus* els 5 dies previs a l'inici de l'assaig, les femelles del parasitoide van mostrar una preferència significativa per la planta que havia estat en contacte amb el depredador.

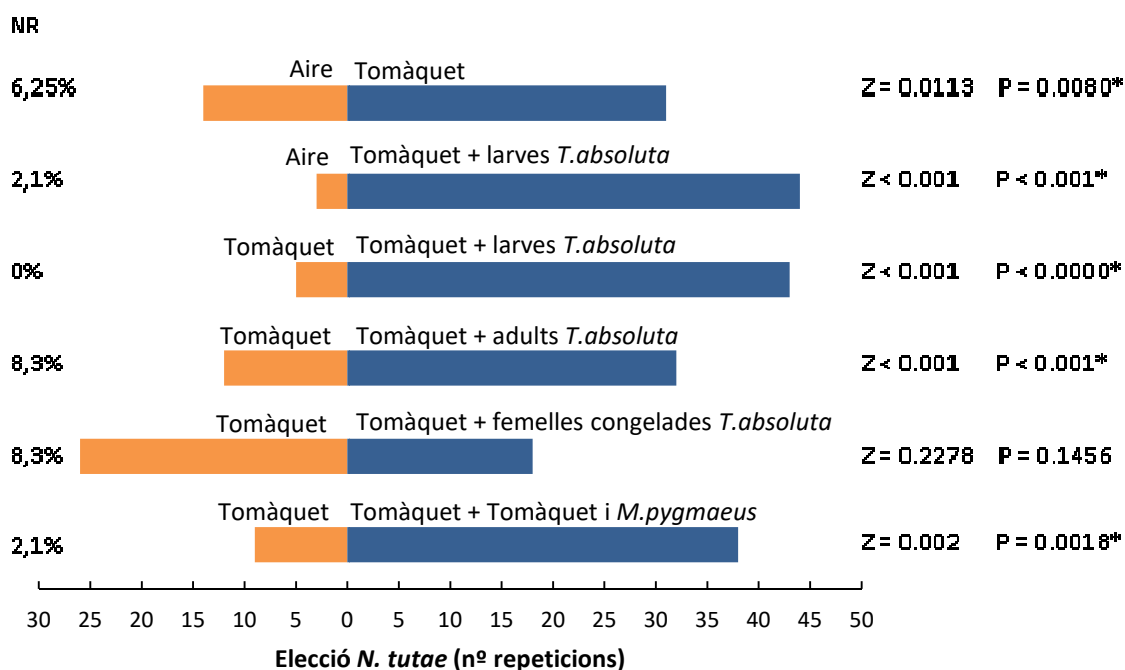


Figura 2. Número de femelles de *N. tutae* atretes a diferents fonts d'olor en un olfactòmetre Y (nº total de femelles testades = 48). Els valors Z i P-valors pertanyen a un test binomial bilateral de resposta aleatòria. * Indica valors significativament diferents entre les fonts d'olor. Els individus que no van respondre (NR) no es van incloure a l'anàlisi. El temps mig de resposta de dalt a baix per als tractaments va ser de 77, 106, 53, 121, 101 i 47s.

El percentatge de no respostes va ser molt baix en totes les comparacions, sent el valor més elevat 8,3% en les comparacions de tomàquet no infestat contra tomàquet amb adults i contra tomàquet amb femelles congelades de *T. absoluta*. Es va arribar a registrar un 100% de respostes en el cas de comparar tomàquet no infestat contra tomàquet amb larves de *T. absoluta*.

No es van trobar diferències significatives en els temps de resposta per cap de les comparacions. La mitjana de temps de resposta per a la comparació d'aire contra tomàquet no infestat va ser de 68 ± 60 s i $76,6 \pm 69,2$ s ($F = 0,1604$, $P = 0,6908$, g.l.= 1) respectivament i per a la comparació d'aire contra tomàquet amb larves de *T. absoluta* de $55,5 \pm 3,5$ s i $108,8 \pm 98,6$ s ($Z = -1.3416$, $P = 0.500$) respectivament. Per a les comparacions de tomàquet no infestat contra tomàquet amb diferents estadis de la plaga les mitjanes en el temps de resposta van ser de: $33,6 \pm 16,96$ s per tomàquet NI i $53 \pm 74,1$ s pel tomàquet amb larves de *T. absoluta* ($Z = -0.6742$, $P = 0.625$), $121,1 \pm 100,1$ s pel tomàquet NI i $124,1 \pm 127,7$ s pel tomàquet amb adults de *T. absoluta* ($Z = -1.0198$, $P = 0.3394$) i $91,1 \pm 65,3$ s per al tomàquet NI i 101 ± 103 s pel tomàquet amb femelles de *T. absoluta* congelades ($Z = -0.02178$, $P = 0.9915$). El temps de resposta per a la comparació de tomàquet no infestat contra tomàquet que havia estat en contacte amb el depredador *M. pygmaeus* durant 5 dies va ser de $67,2 \pm 46,7$ s pel tomàquet no infestat i $46,8 \pm 28,5$ s pel tomàquet en contacte amb el depredador durant 5 dies ($Z = -0.53311$, $P = 0.6523$).

Posteriorment es van comparar els resultats obtinguts dels dos parasitoides per tal de veure si hi havia diferències de comportament entre ells pel que fa a la resposta als tractaments (es van comparar els resultats de aire vs. tomàquet no infestat i aire vs. tomàquet amb larves de *T. absoluta*). *Necremnus tutae* va respondre significativament més que *S. japonicus* tant a l'hora de reconèixer la planta de tomàquet no infestat ($Z < 0.001$, $P < 0.001$) com al reconèixer la planta de tomàquet

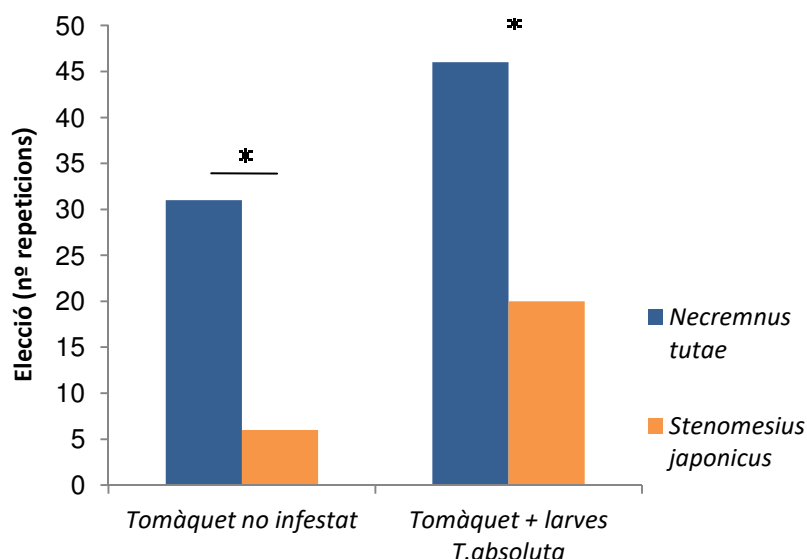


Figura 3. Número de femelles de *S. japonicus* i *N. tutae* atretes a diferents fonts d'olor en un olfactòmetre Y (nº total de femelles testades = 48). * Indica valors significativament diferents entre les fonts d'olor ($P < 0.05$). Els individus que no van respondre no es van incloure a l'anàlisi.

infestada amb larves de *T. absoluta* ($Z = 0.0014$, $P < 0.0009$) (Fig. 3). A més, els temps de resposta per a reconèixer la font d'olor van ser significativament més alts per *S. japonicus* en comparació amb *N. tutae*, en tots dos casos (Fig. 4). Per al tomàquet sa, la mitjana de temps de resposta va ser de 182s per a *S. japonicus* enfront de 77s per a *N. tutae* ($W = 32$, $P = 0.01264$), i per al tomàquet amb larves de *T. absoluta* va ser de 227s enfront de 106s sent el valor més alt el corresponent a *S. japonicus* ($W = 198.5$, $P = 0.0002704$).

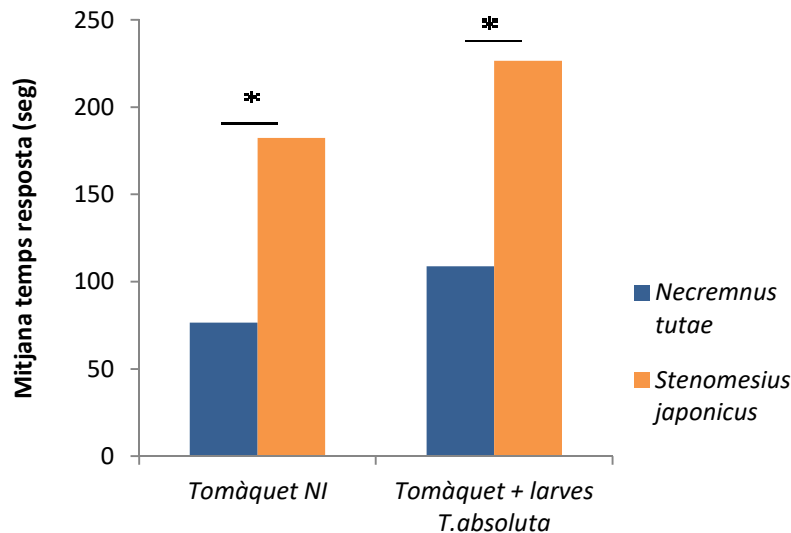


Figura 4. Mitjana del temps de resposta de *S. japonicus* i *N. tutae* per a diferents fonts d'olor en un olfactòmetre Y (nº total de femelles testades = 48). * Indica valors significativament diferents entre les fonts d'olor ($P < 0.05$).

4.2. Assajos de preferència de *Necremnus tutae*

4.2.1. No-preferència

En els assajos de no-preferència en els quals es van oferir dos folíols del mateix tractament (dos folíols de tomàquet que havien estat 5 dies en contacte amb *M. pygmaeus* i posteriorment se'ls hi havia afegit una larva de *T. absoluta* o dos folíols de tomàquet amb una larva de *T. absoluta*), es van trobar diferències significatives en comparar la quantitat de larves de *T. absoluta* parasitades (Fig. 5), sent 4 en el folíols No M i 12 als folíols M ($Z = 0.0455$, $P = 0.0384$). En canvi, el nombre de larves mortes no va ser significativament diferent pels dos tractaments, trobant 9 pels folíols No M i 15 pels folíols M ($Z = 0.2207$, $P = 0.1537$). Cal destacar que en tots dos casos el

nombre de larves vives va ser molt elevat, del total de 60 larves es van trobar vives 46 en el cas dels folíols que no havien tingut *M. pygmaeus* i 32 pels que sí. En tots els controls duts a terme, el 100% de les larves van resultar vives, per tant la mortalitat trobada es deu exclusivament a l'activitat del parasitoide.

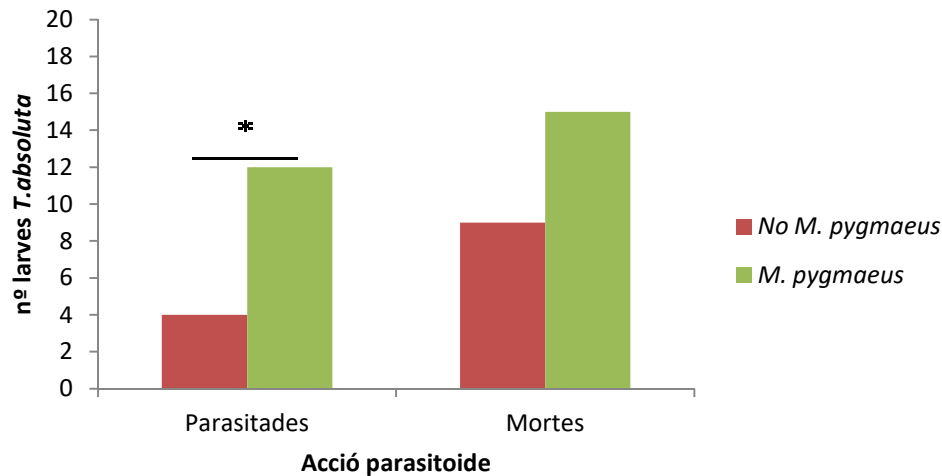


Figura 5. Número de larves de *T. absoluta* mortes i parasitades (nº de larves vives no es considera, el valor és el complementari fins arribar a 60) per als folíols que havien estat en contacte amb *M. pygmaeus* i pels folíols que no havien estat en contacte amb el depredador (n= 60). * Indica valors significativament diferents entre tractaments ($P < 0.05$).

Es va dur a terme l'anàlisi d'ous de parasitoide que van ser trobats en les larves de *T. absoluta* parasitades (Fig. 6), en aquest cas, cal dir que el nombre va ser significativament superior en el cas dels folíols que van tenir la presència de *M. pygmaeus* ($W = 330$, $P = 0.0229$). Es van trobar fins a un màxim de 4 ous de *N. tutae* parasitant una larva de *T. absoluta* d'un folíol M, enfront de 2 en els folíols No M.

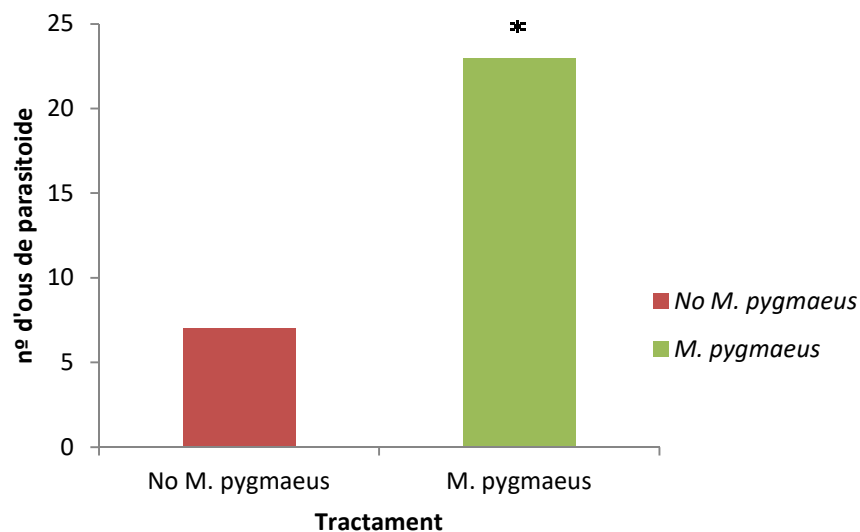


Figura 6. Número d'ous de *N. tutae* trobats parasitant larves de *T. absoluta* per a cada estímulo. * Indica valors significativament diferents entre estímuls ($P < 0.05$).

4.2.1. Preferència

Per als assajos de preferència, en els quals s'oferia un folíol de cadascun dels tractaments (un folíol que havia estat en contacte durant 5 dies amb *M. pygmaeus* i un folíol que no, als quals se'ls hi havia afegit posteriorment una larva de *T. absoluta*), es van trobar diferències significatives en el número de larves de *T. absoluta* parasitades, trobant un nombre més elevat de larves parasitades al folíols que havien estat en contacte amb *M. pygmaeus* ($Z = 0.0253$, $P = 0.0313$). A més, en els folíols on no hi havia estat el depredador, no es va trobar cap larva de *T. absoluta* parasitada. El nombre de larves mortes va ser el mateix per als dos tractaments i el nombre de larves vives va ser molt elevat en els dos casos, 34 larves vives en el cas dels folíols sense contacte amb *M. pygmaeus* i 29 en el cas dels folíols que sí havien estat en contacte amb el depredador, d'un total de 36 (Fig. 7). En tots els controls duts a terme, el 100% de les larves van resultar vives, per tant la mortalitat trobada es deu exclusivament a l'activitat del parasitoide.

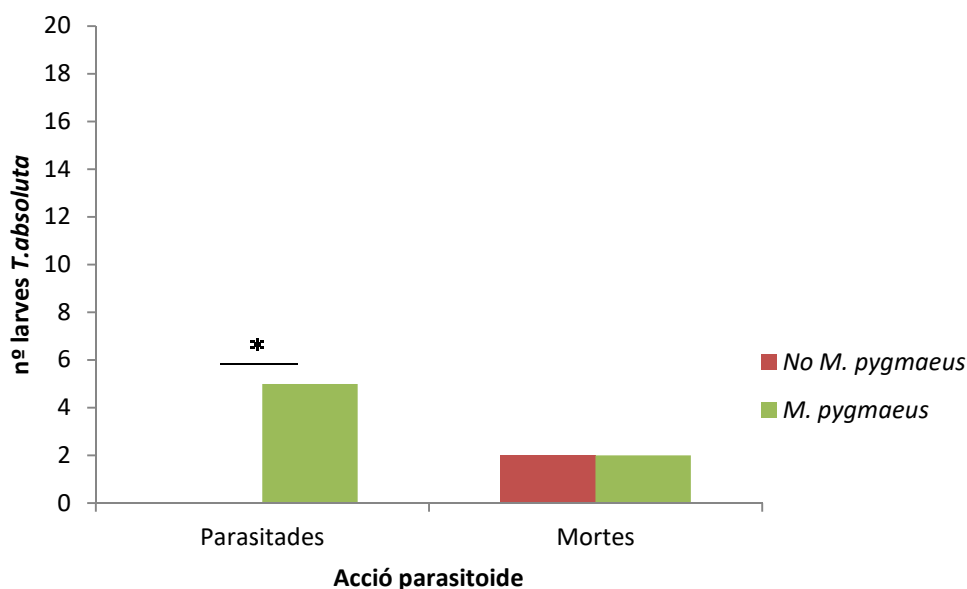


Figura 7. Número de larves de *T. absoluta* mortes i parasitades (nº de larves vives no es considera, el valor és el complementari fins arribar a 36) per a per als folíols que havien estat en contacte amb *M. pygmaeus* i pels folíols que no havien estat en contacte amb el depredador (n=36). * Indica

El nombre d'ous del parasitoide trobats va ser significativament més elevat en els folíols que havien tingut el depredador, ja que per aquests es van trobar 17 ous de parasitoide i en els folíols No M no és va trobar cap larva de *T. absoluta* parasitada i per tant cap ou de *N. tutae* ($Z = 2,9946$, $P = 0,0039$). En els folíols M, es van trobar fins a 4 ous de *N. tutae* parasitant una mateixa larva de *T. absoluta*.

5. Discussió

Els resultats obtinguts mostrarien que el parasitoide *S. japonicus* va necessitar un nivell d'infestació alt, una planta de tomàquet infestada amb tots els estadis de *T. absoluta*, per poder reconèixer la plaga. Si extrapolem aquests resultats a nivell camp, es podria dir que *S. japonicus* només reconeixeria la plaga quan aquesta ja s'hagués establert al cultiu i tingués una població elevada. Contràriament, *N. tutae* sí va respondre a la planta de tomàquet no infestada però va preferir la planta de tomàquet infestada amb els diferents estadis de *T. absoluta* (excepte en el cas en que els adults van estar morts). Per tant, *N. tutae* va ser capaç de reconèixer la planta de tomàquet en sí mateixa, així com també la planta atacada per la plaga. Nombroses espècies de parasitoides tenen l'habilitat de distingir els volàtils emesos per les plantes (HIPVs), els emesos pels herbívors que ataquen la planta i també poden distingir si aquesta plaga és hoste i quin estadi es troba infestant la planta (Paré et al., 1999; Dicke et al., 2000; McCormick et al., 2012). Per exemple, a Zhao et al., 2002 troben com el parasitoide *Diglyphus isaea* (Walker) (Hymenoptera: Eulophidae) respon a la planta de mongeta infestada amb *Liriomyza sativae* (Blanchard) (Diptera: Agroyzidae) o la planta danyada mecànicament, però no respon a la planta sana o amb mines buides; aquests resultats coincidirien parcialment amb els trobats en aquest treball, ja que *N. tutae* sí va detectar la planta no infestada. A més, segons diferents estudis, la mateixa espècie hoste també és atraient pel parasitoide, fet que indica que tenen diferents mètodes per a localitzar l'espècie diana. Els nostres resultats demostrarien que *N. tutae* també utilitza els volàtils emesos per la planta de tomàquet per a guiar-se cap a la plaga i que tot i que detecta els diferents estadis de *T. absoluta*, es veu atret per la plaga només si està viva ja que així li proporciona aliment i base reproductiva.

En comparar la resposta que tenen als diferents volàtils les dues espècies de parasitoides, es va trobar que *N. tutae* responia tant pel que fa a la planta de tomàquet no infestada com a la infestada amb larves de *T. absoluta* mentre que *S. japonicus* només va respondre quan la planta va tenir un alt nivell d'infestació de la plaga. Gabarra et al., (2014), Zappalà et al., (2012) i Urbaneja et al., (2012) van trobar que *N. tutae* té una distribució geogràfica més àmplia en la regió Mediterrània que *S. japonicus*, el que podria ser degut a que *N. tutae* té algun avantatge ecològic o un rang d'hostes alternatius majors, en comparació amb *S. japonicus*, entre altres possibles motius. Un d'aquests motius podria ser que *N. tutae* tingues una major capacitat de reconèixer els volàtils associats tant a la planta com a la plaga que *S. japonicus*. De fet, quasi la totalitat de parasitoides de larves de *T. absoluta* que s'han trobat en prospeccions de parasitisme natural en hivernacles i camps a l'aire lliure de tomàquet

pertanyen al gènere *Necremnus* (TFM Oriol Serra Romeu 2018; resultats no publicats 2016-2017, Rosa Gabarra i Judit Arnó).

Necremnus tutae, va preferir les plantes de tomàquet que havien estat 5 dies en contacte amb el depredador zoofitòfag *M. pygmaeus* a les plantes que no hi havien estat en contacte. A més, en oferir al parasitoide una fulla de tomàquet infestada amb larves de *T. absoluta* o un folíol de tomàquet amb larves de *T. absoluta* que havia estat en contacte amb *M. pygmaeus* (assaig no-preferència), va preferir aquella que havia tingut el depredador. En aquests folíols va tenir una major activitat, parasitant més larves de la plaga i produint una descendència major. En dur a terme un cas més real per al qual el parasitoide es pot trobar amb un camp que no tingui una població uniforme del depredador (assaig de preferència) i per tant en el que el parasitoide hauria d'escollir entre folíols que haguessin tingut *M. pygmaeus* i folíols que no; també es va trobar que el parasitoide va dur a terme una major activitat en aquelles fulles que havien estat en contacte amb *M. pygmaeus*. A més, només va parasitar les larves de *T. absoluta* que es trobaven als folíols de tomàquet que havien estat en contacte amb *M. pygmaeus*.

Segons Pérez – Hedo *et al.*, (2017), *N. tutae* reconeix la planta de tomàquet que ha estat amb *M. pygmaeus*, però aquest fet és degut a l'emissió de volàtils del mateix parasitoide i no a causa de l'emissió de volàtils per part de la planta de tomàquet en la qual s'ha alimentat el depredador. En aquest estudi, es va trobar que la molècula d'acetat d'octyl és aquella que emet *M. pygmaeus* i és atraient per *T. absoluta*, aquesta molècula es troba a les feromones d'alguns insectes i per tant es pot hipotetitzar que també forma part de la feromona de *T. absoluta* o almenys s'assembla a algun dels seus components i per això provoca la seva atracció. Aquesta hipòtesi també explicaria els resultats trobats en aquest treball, ja que si aquesta molècula s'assembla o forma part de la feromona de la *T. absoluta*, *N. tutae* estaria escollint la planta de tomàquet amb *M. pygmaeus* perquè reconeix en el volàtil que emet com si fos la mateixa plaga. La presència del depredador és llavors un incentiu pel parasitoide, que augmenta la seva efectivitat parasitant les larves de *T. absoluta* i la quantitat de descendència. Per tant, podríem dir que la interacció entre aquest parasitoide i el depredador, és complementaria, ja que *M. pygmaeus* consumeix ous de *T. absoluta* i emet volàtils que atrauen a *N. tutae* que parasita les larves de la plaga, millorant el control de la mateixa. A Calvo *et al.*, (2016) es comprova l'efecte que té la interacció de *N. tutae* i *Nesidiocoris tenuis* (Reuter) (Hemiptera: Miridae) sobre *T. absoluta*, veient com per separat no són capaços de controlar adequadament la plaga; però la interacció dels dos enemics naturals és positiu i provoca un control òptim. Així

doncs, podríem pensar que aquest efecte podria ser semblant per a la interacció entre *M. pygmaeus* i *N. tutae*.

Els resultats obtinguts en aquest treball poden ajudar a entendre més el comportament dels parasitoides de *T. absoluta*, *S. japonicus* i *N. tutae*, aquesta informació pot ser útil a l'hora de desenvolupar nous mètodes d'atracció dels enemics naturals al cultiu. Un alliberament en fases inicials del cultiu de *M. pygmaeus* o afavorir la colonització natural d'aquest depredador i una posterior solta de *N. tutae*, podria millorar la instal·lació del parasitoide al cultiu; tot i així s'hauria de tenir en compte el cost de fer un control biològic per inoculació. Però, si es fan estudis per determinar quina molècula específica és la que atrau a *N. tutae*, es podria fer servir per a idear un sistema de dispensadors de volàtils que emetessin una dosi regular d'aquests per tal d'atraure els parasitoides al cultiu en fases inicials de la infestació de la plaga, promovent així el control biològic per conservació i la població de parasitoides autòctona de la zona.

6. Conclusions

Després d'haver analitzat els resultats obtinguts en aquest treball podem concloure que *Stenomesus japonicus* no és capaç de detectar la planta de tomàquet i només detecta la planta atacada per *T. absoluta* si aquesta presenta una infestació avançada amb diferents estadis de desenvolupament de la mateixa, per tant no seria un bon candidat per dur a terme programes de conservació o inoculació dintre del context del control biològic.

En canvi, *N. tutae*, sí és capaç de detectar la planta de tomàquet sana com també aquella que està infestada per *T. absoluta* ja sigui per larves o per adults, responnent significativament més ràpid que *S. japonicus*.

Necremnus tutae es veu atret per la planta que ha estat en contacte amb el depredador *M. pygmaeus* i es capaç de parasitar més larves de *T. absoluta* quan aquestes es troben en folíols que han estat en contacte amb el depredador. Aquestes característiques fan que possiblement *N. tutae* sigui un parasitoide adient per dur a terme programes de conservació i/o inoculació en cultius de tomàquet. *Necremnus tutae* podria conviure amb *M. pygmaeus*, un depredador zoofitòfag que es fa servir de manera generalitzada en control biològic, i beneficiar-se de la seva presència per localitzar més eficientment la plaga.

7. Bibliografia

- Albajes, R. & Alomar, O. 1999. Current and potential use of polyphagous predators. In: Albajes, R., Gullino, M.L., van Lenteren, J.C. & Elad, Y. (Ed.) *Integrated Pest and Disease Management in Greenhouse Crops*. Dordrecht, Netherlands, Kluwer Academic Publishers, pp. 265-275.
- Arnó J., Gabarra R. & Alomar O. (2012) Hymenoptera abundance on candidate plants for conservation biological control. *IOBC wprs Bulletin* 75: 13-1.
- Arnó J., Sorribas R., Prat M., Matas M., Pozo C., Rodríguez D., Garreta A., Gómez A., Gabarra R. (2009) *Tuta absoluta*, a new pest in IPM tomatoes in the northeast of Spain. *IOBC wprs Bulletin* 49: 203-208.
- Bodino, N., Ferracini, C. & Tavella, L. (2018). Functional response and age-specific foraging behaviour of *Necremnus tutae* and *N. cosmopterix*, native natural enemies of the invasive pest *Tuta absoluta* in Mediterranean area. *Journal of Pest Science* 1-12.
- Bodino, N., Ferracini, C. & Tavella, L. (2016). Is host selection influenced by natal and adult experience in the parasitoid *Necremnus tutae* (Hymenoptera: Eulophidae)? *Animal Behaviour*, 112: 221–228.
- Bouagga, S., Urbaneja, A., Rambla, J.L., Granell, A. & Pérez-Hedo, M. (2018a). *Orius laevigatus* strengthens its role as a biological control agent by inducing plant defenses. *Journal of Pest Science*, 91 (1): 55–64.
- Bouagga, S., Urbaneja, A., Rambla, J.L., Flors, V., Granell, A., Jaques, J.A. & Pérez-Hedo, M. (2018b). Zoophytophagous mirids provide pest control by inducing direct defences, antixenosis and attraction to parasitoids in sweet pepper plants. *Pest Management Science*, 74 (6): 1286-1296.
- Calvo, F.J., Soriano, J.D., Stansly P.A. & Belda, J.E. (2016). Can the parasitoid *Necremnus tutae* (Hymenoptera: Eulophidae) improve existing biological control of the tomato leafminer *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae)? *Bulletin of Entomological Research*, 106 (4): 502–511.
- Calvo, F.J., Soriano, J.D., Bolckmans K. & Belda J.E. (2013). Host instar suitability and life-history parameters under different temperature regimes of *Necremnus artynes* on *Tuta absoluta*. *Biocontrol Science and Tecnology*, 23 (7): 803-815.

- Chailleux, A., Desneux, N., Arnó, J. & Gabarra, R. (2014). Biology of two key Palaearctic larval ectoparasitoids when parasitizing the invasive pest *Tuta absoluta*. *Journal of Pest Science*, 87 (3): 441-448.
- Chailleux, A., Bearez, P., Pizzol, J., Amiens-Desneux, E., Ramirez-Romero, R. & Desneux, N. (2013). Potential for combined use of parasitoids and generalist predators for biological control of the key invasive tomato pest *Tuta absoluta*. *Journal of Pest Science*, 86 (3): 533–541.
- Clavijo McCormick, A., Unsicker, S.B. & Gershenzon, J., (2012). The specificity of herbivore-induced plant volatiles in attracting herbivore enemies. *Trends in Plant Science*, 17 (5): 303–310.
- De Backer, L., Bawin, T., Schott, M., Gillard, L., Markó, I.E., Francis, F. & Verheggen, F. (2016). Betraying its presence: identification of the chemical signal released by *Tuta absoluta*-infested tomato plants that guide generalist predators toward their prey. *Arthropod-Plant Interactions*, 11 (2): 111–120.
- De Backer, L., Megido, R.G., Fauconnier, M.L., Brostaux, Y., Francis, F. & Verheggen, F. (2015). *Tuta absoluta*-induced plant volatiles: attractiveness towards the generalist predator *Macrolophus pygmaeus*. *Arthropod-Plant Interactions*, 9 (5): 465–476.
- De Moraes, C.M., Lewis, W. J., Pare, P. W., Alborn, H. T. & Tumlinson, J. H. (1998). Herbivore-infested plants selectively attract parasitoids. *Nature*, 393: 570–573.
- Desneux, N., Wajnberg, E., Wyckhuys, K.A.G., Burgio, G., Arpaia, S., Narvaez-Vasquez, C.A., Gonzalez-Cabrera, J., Catalan, D., Tabone, E., Frandon, J., Pizzol, J., Poncet, C., Cabello, T. & Urbaneja, A. (2010). Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control. *Journal of Pest Science*, 83: 197 - 215.
- Desneux, N., Luna, M.G., Guillemaud, T. & Urbaneja, A. (2011). The invasive South American tomato pinworm, *Tuta absoluta*, continues to spread in Afro-Eurasia and beyond: the new threat to tomato world production. *Journal of Pest Science*, 84: 403 - 408.
- Dicke, M. & Baldwin, I.T. (2010). The evolutionary context for herbivore-induced plant volatiles: beyond the “cry for help.” *Trends in Plant Science*, 15 (3): 167–175.

- Dicke, M. & van Loon, J.J.A. (2000). Multitrophic effects of herbivore-induced plant volatile in an evolutionary context. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 97 (3): 237–249.
- Fatouros, N.E., van Loon, J.J.A., Hordijk, K.A., Smid, H.M. & Dicke, M. (2005). Herbivore-induced plant volatiles mediate in-flight host discrimination by parasitoids. *Journal of Chemical Ecology*, 31 (9): 2033–2047.
- Fors, L., Mozuraitis, R., Blažytė-Čereškienė, L., Verschut, T.A. & Hambäck, P.A. (2018). Selection by parasitoid females among closely related hosts based on volatiles: Identifying relevant chemical cues. *Ecology and Evolution*, 8 (6): 3219–3228.
- Furlong, M.J., Ang, G.C.K., Silva, R. & Zalucki, M.P. (2018). Bringing Ecology Back: How Can the Chemistry of Indirect Plant Defenses Against Herbivory Be Manipulated to Improve Pest Management? *Frontiers in Plant Science*, 9 (September): 2012–2019.
- Gabarra, R., Arno, J., Lara, L., Verdu, M. J., Ribes, A., Beitia, F., Urbaneja, A., Tellez, M.M., Molla, O. & Riudavets, J. (2014). Native parasitoids associated with *Tuta absoluta* in the tomato production areas of the Spanish Mediterranean Coast. *BioControl*, 59 (1): 45–54.
- Gebiola, M., Bernardo, U., Ribes, A. & Gibson, G.A. (2015). An integrative study of *Necremnus* Thomson (Hymenoptera: Eulophidae) associated with invasive pests in Europe and North America: taxonomic and ecological implications. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 173 (2):352–423.
- James, D.G. & Grasswitz, T.R. (2005). Synthetic herbivore-induced plant volatiles increase field captures of parasitic wasps. *BioControl*, 50 (6): 871–880.
- James, D.G. (2004). Further field evaluation of synthetic herbivore-induced plant volatiles as attractants for beneficial insects. *Journal of Chemical Ecology*, 31 (3): 481–495.
- Kher, S. V., Carcamo, H. A., Evenden, M. L. & Dosdall, L. M. (2017). Olfactory host-finding behaviour of *Oulema melanopus* (Coleoptera: Chrysomelidae) and its parasitoid, *Tetrastichus julis* (Hymenoptera: Eulophidae). *Journal of Applied Entomology*, 141 (9):740–750.

- Mbata, G.N., Eason J., Payton M. E. & Davis, M. F. (2017). Putative host volatiles used by *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) to locate larvae of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Insect Behaviour* 30: 287-299.
- Naselli, M. Biondi, A., Tropea-Garzia, G., Desneux, N., Russo, A., Siscaro, G. & Zappalà L. (2017). Insights into food webs associated with the South American tomato pinworm. *Pest Management Science*, 73: 1352 - 1357.
- Serra, O. (2019). Control biològic de *Tuta absoluta* en tomàquet. Treball final de màster. Universitat Politècnica de Catalunya, Escola Superior d'Agricultura de Barcelona.
- Pare, P.W. & Tumlinson, J.H. (1999). Update on plant-insect interactions plant volatiles as a defense against insect herbivores. *Plant Physiology*, 121(October): 325–331.
- Pérez-Hedo, M. Bouagga, S., Jaques, J.A., Flors, V. & Urbaneja, A. (2015). Tomato plant responses to feeding behavior of three zoophytophagous predators (Hemiptera: Miridae). *Biological Control*, 86: 46–51.
- Pérez-Hedo, M. Rambla, J.L., Granell, A. & Urbaneja, A. (2018). Biological activity and specificity of miridae-induced plant volatiles. *BioControl*, 63: 203-213.
- Rodriguez-Saona, C., Chalmers, J.A., Raj, S. & Thaler., J.S. (2005). Induced plant responses to multiple damagers: Differential effects on an herbivore and its parasitoid. *Oecologia*, 143 (4): 566-577.
- Sasso, R., Iodice, L., Woodcock C.M., Pickett, J.A. & Guerrieri, E. (2009). Electrophysiological and behavioural responses of *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Braconidae) to tomato plant volatiles. *Chemoecology*, 19: 195-201.
- Silva, D.B. Bueno V.H.P., Van Loon J.J.A., Peñaflor M.F.G.V., Bento J.M.S. & Van Lenteren J.C. (2017). Attraction of the three mirid predators to tomato infestations by both the tomato leaf mining moth *Tuta absoluta* and the whitefly *Bemisia tabaci*. *Journal of Chemical Ecology*, 44: 29-39.
- Zappalà, L., Bernardo, U., Biondi, A., Cocco, A., Deliperi, S., Delrio, G., Giorgini, M., Pedata, P., Rapisarda, C., Tropea, G. & Siscaro, G. (2012). Recruitment of native parasitoids by the exotic pest *Tuta absoluta* in southern Italy. *Bulletin of Insectology*, 65 (1): 51–61.

- Zhao, Y.X. & Kang, L. (2002). The role of plant odours in the leafminer *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae) and its parasitoid *Diglyphus isaea* (Hymenoptera: Eulophidae): Orientation towards the host habitat. *European Journal of Entomology*, 99: 445-450.
- Urbaneja, A., González-Cabrera J., Arnó J. & Gabarra R. (2012). Prospects for the biological control of *Tuta absoluta* in tomatoes of the Mediterranean basin. *Pest Management science*, 68: 1215–1222.
- Urbaneja A., Montón H. & Nollá O. (2009) Suitability of the tomato borer *Tuta absoluta* as prey for *Macrolophus pygmaeus* and *Nesidiocoris tenuis*. *Journal Applied Entomology*, 133: 292-296.
- Urbaneja A., Vecher R., Navarro V., Garcia-Marí F. & Porcuna J.L. (2007) La polilla del tomate, *Tuta absoluta*. *Phytoma España* 194: 16-23.